

**KERAGAMAN GEN GH (*Growth Hormone*) PADA POPULASI KAMBING  
KACANG DI KABUPATEN JENEPONTO**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**YULIANTY**  
**I 111 09 272**



**PROGRAM STUDI PRODUKSI TERNAK  
JURUSAN PRODUKSI TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**KERAGAMAN GEN GH (*Growth Hormone*) PADA POPULASI KAMBING  
KACANG DI KABUPATEN JENEPONTO**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**YULIANTY  
I 111 09 272**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada Fakultas  
Pernakan Universitas Hasanuddin**

**PROGRAM STUDI PRODUKSI TERNAK  
JURUSAN PRODUKSI TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

Judul Penelitian : **Keragaman Gen GH (*Growth Hormone*) pada Populasi Kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto**

Bidang Studi : **Genetika dan Pemuliaan Ternak**

Peneliti

Nama : Yulianty  
Nim : I 111 09 272  
Jurusan : Produksi Ternak  
Prog. Studi : Produksi Ternak

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

**Prof.Dr.Ir.Lellah Rahim,M.Sc**  
**NIP. 19630501 198803 1 004**

**Dr.Muh Ihsan A Dagong,S.Pt.,M.Si**  
**NIP. 19770526 200212 1 003**

Ketua Jurusan Produksi Ternak

Ketua Jurusan Produksi Ternak

**Prof.Dr.Ir.H. Syamsuddin Hasan,M.Sc**  
**NIP. 19590923 197903 1 002**

**Prof.Dr.Ir.H. Sudirman Baco,M.Sc**  
**NIP. 19641231 198903 1 025**

**Tanggal Lulus : Juli 2013**

## **PERNYATAAN KEASLIAN**

1. Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yulianty

NIM : I 111 09 272

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

- a. Karya skripsi yang saya tulis adalah asli
  - b. Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi, terutama dalam Bab Hasil dan Pembahasan tidak asli atau plagiat maka bersedia dibatalkan atau dikenakan sanksi akademik yang berlaku.
2. Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat dipergunakan sepenuhnya.

Makassar, Agustus 2013

TTD

Yulianty

## KATA PENGANTAR



Puji syukur kita panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul **“Keragaman Gen GH (*Growth Hormone*) pada Populasi Kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto “**.

Dalam menyelesaikan penelitian ini, penulis menyadari bahwa itu tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun secara materil. Olehnya itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ayahanda M. Damis.L dan ibunda Hj. Hasnawati tercinta yang banyak memberikan dorongan moril dan materi dalam penyusunan skripsi ini. Serta kakak dan adikku tersayang “Yuliana,S.Pd, Abd.Rahman, Novia Damayanti” yang telah banyak memberikan dukungan moril dan materi dalam penyusunan skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Syamsuddin Hasan, M.Sc selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Asmuddin Natsir, M.Sc selaku Wakil Dekan I, Bapak Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc selaku Wakil Dekan II dan Bapak Ir. Muhammad Aminawar, MM selaku Wakil Dekan III Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc selaku Ketua Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc dan Dr. Muh. Ihsan A Dagong, S.Pt., M.Si selaku pembimbing dalam pembuatan laporan penelitian.

6. Bapak Prof. Dr. Ir. Djoni Prawira Rahardja, M.Sc, Ibu Prof. Dr. Ir. Hj. Sahari Banong, M.S, Bapak Muhammad Hatta, S.Pt., M.Si selaku penguji yang telah banyak memberikan masukan, kritikan serta dukungan.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Djoni Prawira Rahardja, M.Sc selaku pembimbing akademik yang memberikan banyak informasi serta dukungan dalam perkuliahan.
8. Bapak Luqman dan Ka Fauziah, SE yang banyak memberikan bantuan dan informasi selama proses perkuliahan.
9. Seluruh dosen, staf Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan dan satf Fakultas Peternakan yang telah banyak membantu dalam proses perkuliahan.
10. Seluruh Keluarga Besar Hj.Ambie dan Hj.Junudi yang telah memberikan dukungan moril dan materi dalam penyusunan skripsi ini.
11. Kakak Sepupu tersayang “Iqbal” yang telah banyak memberikan dukungan baik berupa moril dn materi selama proses perkuliahan.
12. Ichsan Ashari Natsir selaku teman dekat saya yang telah banyak memberikan dukungan baik berupa moril dan materi, semangat dalam aktivitas perkuliahan sampai penyusunan skripsi.
13. Rekan - rekan seperjuangan **“Merpati 09”** buat kalian semua yang telah banyak memberi dukungan selama 4 tahun bersama, yang telah memberi dukungan baik berupa moril dan materi, serta banyak memberikan informasi sehingga bisa menjadi pribadi yang dewasa sampai saat ini.
14. Senior-senior yang banyak berbagi ilmu selama proses perkuliahan “Dzuliyadaeni, S.Pt, Kanda Al Kahfi R Lidda, Andi Ferial Akbar, S.Pt, Muh. Akhsan, S.Pt, Kanda Anto, Andi Andryana, S.Pt, Andi Vivi Nirawan, S.Pt,

M.Nasir Karim,S.Pt, (Alm) Jannuar Syarief, Kanda Abdul Abid, M. Azhar,S.Pt, M. Anas Kurniawan,S.Pt”

15. Senior dan Junior **Spider 03, Lebah 05, Colagen 06, Rumput 07, Bakteri 08, Lion 10”**

16. Rekan - rekan KKN UNHAS Gelombang 82 Posko Salokaraja Kecamatan Lalabata Kabupaten Soppeng “Andi Evan Hidayat SH, Nurul Fajri Husin S.Ip, Andi Putri Lanri Sari, Dian Ekawati, Herin Arini Natalia S.Ked, Farel Pratama, Ridha Tunnisa dan Ka Bustanil Yasir, S.S.

17. Kanda Nurul Purnomo,S.Pt, Rusny,S.Pt, Wana,S.Pt dan Rasyida,S.Pt yang telah setia berbagi ilmu dalam penyusunan skripsi ini.

18. Teman - teman “Sri Dian Anggraeni, Amk, Ns. Hatija Jalaluddin, S.Kep, Ns.Dian Ekawati Marsaoly, S.Kep, Mardhiana Sapang dan Megha Sapang” atas motivasi dan dukungan moril yang diberikan selama penyusunan skripsi.

19. Seluruh guru dan teman - teman semasa sekolah **SDN 018 Tg.Redeb, MtsN Tg.Redeb, dan Smansa Berau** yang banyak memberi dukungan dan motivasi.

20. Sahabat - sahabat Vera Riyanti A.Md.Keb, Kasmidah, Bianca Juliana, Lubna S.Ked, Nurul Fitriyah S,KM, Miftahul Jannah Amd.AK, Eko Mustasi Arif S.Pd dan Ali Murtopo yang banyak memberi dukungan moril.

21. Sahabat - sahabat Ridha Tunnisa, Hendra Setiawan, Nur Salmah, A. Utami Amalia Nirwana, Winda Lestari Kahar, Ristasari Sadi, St. Zaidah, Sapri Usman, Rasmiati, Avriani Marewa, Urfiana Sarah, S.Pt, A. Muh Nur Thamrin, Adhan Setiawan, Firman Zainal, Firman Rusdi, Bahri Syamsuriadi, Fahmillah Ismail, Nur Halis Elvin, Nur Jasdan, Nanan Narundana, Abdullah Syahid terima kasih untuk semua dukungan moril dan materi serta semua suka duka yang kalian berikan, tanpa kalian akan terasa galau.

22. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan namanya yang telah banyak memberikan bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya akan kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi yang sifatnya membangun sangat penyusun harapkan dari pembaca yang budiman untuk penyempurnaan penulisan selanjutnya. Disamping itu penyusun juga berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi peneliti dan bagi nusa dan bangsa. Wassalam.

Makassar, Agustus 2013

Yulianty



## ABSTRAK

Yulianty (I 111 09 272) Keragaman Gen GH (*Growth Hormone*) pada Populasi Kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto. Dibawah bimbingan Lellah Rahim sebagai pembimbing Utama dan Muhammad Ihsan A Dagong sebagai pembimbing Anggota.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah, jenis dan frekuensi alel, heterozigositas serta frekuensi genotipe dari gen GH pada populasi kambing Kacang yang ada di Kabupaten Jeneponto dengan menggunakan teknik PCR-RFLP (*polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*). Sebanyak 47 sampel darah dikoleksi dari Kabupaten Jeneponto. Genom diekstraksi dengan menggunakan Kit DNA ekstraksi Genjet Genomic DNA Extraction (Thermo Scientific) dengan mengikuti protokol ekstraksi yang disediakan dan diamplifikasi dengan teknik PCR, kemudian produk PCR dipotong dengan enzim restriksi. Analisis polimorfisme meliputi frekuensi alel dan genotipe, heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ), heterozigositas harapan ( $H_e$ ) dan keseimbangan Hardy-Weinberg. Gen GH|*HaeIII* bersifat polimorfik. Alel A yaitu 0,638 dan alel B yaitu 0,36. Pada populasi kambing Kacang diperoleh nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) yaitu 0,5333 dan nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) yaitu 0,4617. Frekuensi alel dari gen GH|*HaeIII* di populasi Kabupaten Jeneponto berada dalam ketidakseimbangan Hardy-Weinberg ( $P < 0,01$ ).

**Kata Kunci :** Kambing, GH, frekuensi alel, heterozigositas

## ABSTRACT

Yulianty (I 111 09 272) Polymorphisms of Growth Hormone Gene of populations Kacang Goat in Jeneponto. Supervised by Lellah Rahim as the main supervisor and Muhammad Ihsan A Dagong as the vice supervisor.

The aim of study to identify the number, type and frequency of alleles and genotype, heterozygosity of GH gene in Kacang goat populations from Jeneponto using PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) method. A total of 47 goat blood samples were collected from Jeneponto Regency. The genomic DNA was extracted by using GeneJet Kit and amplified by PCR. Then the PCR product was cut with *Hae*III restriction enzymes. Polymorphism analysis of allele and genotype frequencies covers, observed heterozygosity ( $H_o$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ) and the Hardy-Weinberg equilibrium. GH gene locus *Hae*III were polymorphic. The value of allele frequency A was 0,638 and allele frequency B was 0,36. Obtained heterozygosity value ( $H_o$ ) was 0,5333 and expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0,4617. Allele frequency from GH gene | *Hae*III of Kacang goat populations from Jeneponto were not Hardy-Weinberg ( $P < 0,01$ ) equilibrium.

**Keyword :** Goat, GH. Allele frequency, heterozygosity

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACK .....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
PENDAHULUAN .....	1
TINJAUAN PUSTAKA .....	4
Klasifikasi Kambing .....	4
Karakteristik Kambing Kacang .....	5
Keragaman Genetik .....	6
Penanda DNA Terciri ( <i>Marker Assisted Selection</i> ).....	7
Kandidat Gen untuk Sifat Produksi .....	8
Gen <i>Growth Hormone</i> (GH).....	11
Analisa Keragaman DNA dengan Teknik PCR-RFLP .....	12
MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	16
Waktu dan Tempat.....	16
Materi Penelitian .....	16
Alat dan Bahan .....	16
Metode Penelitian .....	17
Analisa Data .....	19

HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
Amplifikasi Gen GH <i>Exon</i> 2 dan 3.....	20
Keragaman Gen GH <i>Exon</i> 2 dan 3 .....	21
Frekuensi Genotipe dan Alel .....	24
Nilai Heterozigositas .....	27
Keseimbangan Hardy-Weinberg .....	29
PENUTUP.....	31
Kesimpulan.....	31
Saran .....	31
DAFTAR PUSTAKA .....	32
LAMPIRAN .....	
RIWAYAT HIDUP .....	

## DAFTAR TABEL

No.		Halaman
	Teks	
1.	Sequen primer beserta enzim restriksi endonuklease untuk PCR-RFLP ...	18
2.	Frekuensi Genotipe Gen GH   <i>HaeIII</i> .....	24
3.	Frekuensi Alel Gen GH   <i>HaeIII</i> .....	26
4.	Nilai heterozigositas Gen GH   <i>HaeIII</i> .....	28

## DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Teknik PCR-RFLP .....	15
2.	Hasil Amplifikasi Gen GH  <i>Hae</i> III dengan PCR dalam Gel Agarose 1,5% .....	20
3.	Hasil Pendeteksian Keragaman Gen GH   <i>Hae</i> III.....	22
4.	Rekonstruksi Genotipe Gen GH   <i>Hae</i> III .....	22
5.	Jumlah Genotipe dan Frekuensi Genotipe Gen GH   <i>Hae</i> III .....	24
6.	Runutan nukleotida gen GH <i>Exon</i> 2 dan 3.....	26
7.	Frekuensi Alel Gen GH   <i>Hae</i> III .....	27
8.	Nilai Heterozigositas Gen GH   <i>Hae</i> III .....	28

## **PENDAHULUAN**

Salah satu kekayaan plasma nutfah nasional di sub sektor peternakan adalah ternak kambing. Kambing menyebar di berbagai daerah pada kondisi iklim yang berbeda. Ternak kambing adalah hewan ruminansia kecil yang hidupnya membutuhkan pakan yang berasal dari hijauan seperti rumput-rumputan, daun-daunan serta sisa hasil pertanian. Kambing mempunyai daya adaptasi yang baik terhadap berbagai keadaan lingkungan. Pengembangan kambing mempunyai prospek yang baik karena di samping untuk memenuhi kebutuhan daging di dalam negeri, juga memiliki peluang sebagai komoditas ekspor.

Kambing merupakan salah satu komoditi peternakan yang belum digali potensinya secara optimal di Sulawesi Selatan. Posisi kambing sebenarnya cukup strategis dan penting karena permintaan daging khususnya daging sapi cenderung semakin meningkat dan produksi daging sapi tidak mampu mencukupi kebutuhan nasional sehingga daging kambing berpotensi sebagai substitusi kebutuhan daging sapi. Dengan jumlah populasi sekitar 15.853.161 ekor (Ditjenak, 2010), kambing sangat potensial sebagai salah satu ternak penghasil daging untuk menunjang program swasembada daging nasional.

Kambing lokal yang ada di Sulawesi Selatan seperti kambing Kacang berpotensi untuk dikembangkan karena kambing Kacang adaptif terhadap lingkungan lokal Indonesia serta memiliki daya reproduksi yang sangat tinggi. Hingga saat ini program pemuliaan dalam rangka meningkatkan kualitas genetik kambing Kacang belum menunjukkan hasil yang signifikan, informasi yang terkait tentang keragaman genetiknya sampai saat ini belum tersedia sehingga program seleksi belum terarah karena minimnya informasi genetik kambing tersebut.

Perbaikan mutu bibit secara genetik ditentukan oleh variasi genetik dan struktur populasi induknya. Pengetahuan tentang data-data genetik ini sangat diperlukan dalam pemuliaan. Perkembangan teknik molekuler seperti teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang mampu mengamplifikasi untai DNA hingga mencapai konsentrasi tertentu sehingga cukup tinggi untuk dianalisis. Produk PCR ini dapat disekuensing untuk mengetahui sekuen DNA suatu individu. Bersamaan dengan berkembangnya teknik komputer, telah mempermudah para peneliti untuk mendapatkan data genetik.

Perkembangan teknologi saat ini memberikan perubahan di bidang pertanian dan peternakan, khususnya bidang ilmu pemuliaan. Teknik molekuler menggunakan amplifikasi DNA target memberikan alternatif metode untuk diagnosis dan identifikasi keragaman gen. Identifikasi dapat dilakukan dengan metode RFLP (*Restriction fragment length polymorphism*). Menurut Becker, *et al.* (2000), analisis pola *restriction fragment* dihasilkan ketika DNA dicerna oleh enzim restriksi.

Pengukuran potensi ternak dapat diamati melalui sifat pertumbuhan. Pertumbuhan merupakan sifat yang dikendalikan banyak gen. Salah satu gen penting yang mempengaruhi pertumbuhan ternak kambing adalah gen *growth hormone* (GH). *Growth hormone* memiliki peranan penting dalam pertumbuhan jaringan, laktasi, reproduksi dan metabolisme protein, lipid dan karbohidrat. Pendeteksian gen GH pada kambing penting dilakukan untuk mengetahui keragaman gen tersebut karena diduga terkait dengan sifat-sifat yang bernilai ekonomis dapat dijadikan sebagai penciri genetik (Malveiro, *et al.*, 2001).



Berdasarkan uraian diatas maka telah dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi keragaman gen GH (*Growth Hormone*) pada kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto dengan menggunakan teknik PCR-RFLP.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah, jenis dan frekuensi alel, heterozigositas serta frekuensi genotipe dari gen GH pada populasi kambing Kacang yang ada di Kabupaten Jeneponto.

Adapun kegunaan penelitian ini adalah menambah wawasan ilmu pengetahuan khususnya menambah informasi karakteristik genetik khususnya faktor genetik yang terkait dengan pertumbuhan pada kambing Kacang yang ada di Kabupaten Jeneponto.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Klasifikasi Kambing

Kambing diklasifikasikan ke dalam : *Kingdom : Animalia; Phylum : Chordata; Group: Cranita (Vertebrata); Class : Mammalia; Ordo : Artiodactyla; Sub-orde : Ruminantia; Family : Bovidae; Sub-family : Caprinae; Genus : Capra atau Hemitragus; Spesies : Capra Hircus, Capra Ibex, Capra caucasica, Capra pyrenaica, Capra falconeri* (Davendra dan McIeroy, 1982).

Kambing memiliki 60 kromosom yang terdiri atas 29 pasang kromosom autosom dan sepasang kromosom kelamin (Gall, 1981). Kambing merupakan salah satu jenis binatang memamah biak yang berukuran sedang. Kambing liar jantan maupun betina memiliki tanduk sepasang, namun tanduk pada kambing jantan lebih besar. Kambing, umumnya mempunyai jenggot, dahi cembung, ekor agak ke atas, dan kebanyakan berbulu lurus dan kasar. Panjang tubuh kambing liar tidak termasuk ekor adalah 1,3-1,4 m, sedangkan ekornya 12-15 cm. Bobot betina 50-55 kg, sedangkan jantan bisa mencapai 120 kg (Anonim, 2007).

Kambing mempunyai daya adaptasi yang tinggi terhadap iklim tropik yang ekstrim, fertilitas tinggi, interval generasi yang pendek, serta kemampuan memanfaatkan berbagai macam hijauan dengan efisiensi biologis yang lebih tinggi dibandingkan sapi (Heriyadi, 2004). Sampai saat ini diperkirakan terdapat lebih dari 300 bangsa kambing di seluruh dunia. Berdasarkan jumlah tersebut, baru sekitar 81 bangsa kambing yang telah diidentifikasi dan dideskripsikan dengan baik, minimum dapat dibedakan dari sisi performa fisik yang menyangkut sifat-sifat kualitatif dan sifat-sifat kuantitatif, serta hanya

beberapa bangsa yang dapat dibedakan dari segi komposisi darah dan gen (Heriyadi, 2001).

### **Karakteristik Kambing Kacang**

Kambing Kacang merupakan kambing asli Indonesia yang juga terdapat di Malaysia dan Filipina. Kambing Kacang sangat cepat berkembang biak, pada umur 15-18 bulan sudah dapat menghasilkan keturunan. Kambing ini sangat cocok sebagai penghasil daging dan kulit, bersifat prolifik (kemampuan beranak kembar), tahan terhadap berbagai kondisi, dan mampu beradaptasi dengan baik di berbagai lingkungan yang berbeda termasuk dalam kondisi pemeliharaan yang sangat sederhana (Pamungkas, *dkk.*, 2009).

Ciri-ciri kambing Kacang antara lain bulu pendek dan berwarna tunggal (putih, hitam dan cokelat). Warna bulunya dapat berasal dari campuran ketiga warna tersebut. Kambing jantan maupun betina memiliki tanduk yang berbentuk pedang, dan melengkung ke atas sampai ke belakang dengan telinga pendek dan menggantung. Janggut selalu terdapat pada jantan, sementara pada betina jarang ditemukan. Leher berukuran pendek dan punggung berbentuk melengkung. Kambing jantan berbulu surai panjang dan kasar sepanjang garis leher, pundak, dan punggung sampai ekor (Pamungkas, *dkk.*, 2009).

Tingkat kesuburan kambing Kacang tinggi dengan kemampuan hidup dari lahir sampai sapih 79,4%, sifat prolifik anak kembar dua 52,2%, kembar tiga 2,6% dan anak tunggal 44,9%. Umur rata-rata dewasa kelamin adalah 307,72 hari dengan persentase karkas 44-51%. Rata-rata bobot anak lahir 3,28 kg dan bobot sapih (umur 90 hari) sekitar 10,12 kg (Pamungkas, *dkk.*, 2009).

## Keragaman Genetik

Genotipe hewan merupakan sebuah pendekatan yang berguna untuk menggambarkan prinsip-prinsip genetika dan penerapan langsung dalam hal pewarisan sifat. Hukum Hardy-Weinberg menyatakan bahwa frekuensi genotipe suatu populasi yang cukup besar akan selalu dalam keadaan seimbang bila tidak ditemukan seleksi, migrasi, mutasi, dan *genetic drift*. Sifat-sifat ditemukan dalam keragaman genetik dalam spesies dan bangsa atau galur dalam masing-masing spesies. Genetika dipandang dari segi populasi, terutama frekuensi gen dengan efek yang diinginkan (Yuniarsih, *dkk.*, 2011).

Frekuensi gen merupakan istilah yang digunakan untuk menunjukkan proporsi dari semua lokus untuk pasangan gen atau rangkaian alel ganda dalam suatu populasi. Frekuensi gen dari perbedaan-perbedaan itu sangat beragam dari bangsa-bangsa dan antar galur. Frekuensi gen yang timbul dipengaruhi oleh seleksi, mutasi gen, pencampuran dua populasi yang frekuensi gen berbeda, silang dalam (*inbreeding*), silang luar (*outbreeding*) dan *genetic drift* (Yuniarsih, *dkk.*, 2011).

Eksperesi gen dapat mempengaruhi sifat yang muncul. Fenotipik yang muncul dapat dipengaruhi oleh variasi gen pada arah dan besar respon terhadap perubahan lingkungan (Noor, 2008). Fenotipik yang bersifat ekonomis merupakan sifat kuantitatif yang dikontrol oleh banyak gen dan masing-masing gen memberikan sedikit kontribusi pada sifat tersebut (Noor, 2008). Gen semacam ini disebut dengan gen mayor yang terletak pada lokus sifat kuantitatif atau *quantitative traits loci* (QTL). Gen mayor yang dapat digunakan sebagai kandidat dalam program *Marker Assisted Selection* (MAS)

jika gen tersebut mempunyai fungsi dan pengaruh biologis yang nyata terhadap sifat kuantitatif (Diyono, 2009).

### **Penanda DNA Terciri (*Marker Assisted Selection*)**

Salah satu tahapan penting dalam pemuliaan ternak adalah seleksi terhadap keturunan yang membawa sifat-sifat tertentu yang diinginkan. Pemanfaatan penanda molekular DNA dalam proses seleksi ternak terbukti telah memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan cara-cara konvensional. Penanda molekular DNA (marker genetik) yang sudah teridentifikasi berasosiasi dengan QTL (*Quantitative Trait Loci*) yang bernilai ekonomis dapat digunakan untuk meningkatkan akurasi, kecepatan dan intensitas seleksi (Van der Warf, 2000).

Pada pemuliaan ternak secara konvensional, seleksi terhadap keturunan yang membawa gen tertentu dilakukan pada level fenotipik pada tiap-tiap generasi. Dari segi pengaruh ekonomi dan waktu, seleksi terhadap ternak yang memiliki keunggulan genetik berdasarkan sifat fisik yang dapat diamati secara langsung adalah sangat tidak efektif dan efisien. Walaupun demikian, metode ini telah banyak digunakan terutama dalam kasus-kasus tertentu seperti diagnosa untuk pembawa penyakit-penyakit genetik tertentu. Kebutuhan untuk pemuliaan ternak telah mendorong perkembangan penanda genetik (*Marker Assisted Selection/MAS*) (Nicholas, 1996).

Penggunaan *Marker Assisted Selection* (MAS) didasarkan pada gagasan bahwa terdapat gen yang memegang peranan utama dan menjadi sasaran atau target secara spesifik dalam seleksi (Van der Warf, 2000). Beberapa sifat yang dikendalikan oleh gen tunggal seperti warna bulu merupakan pola pewarisan sifat yang sederhana, namun beberapa sifat utamanya sifat produksi yang

kompleks (kuantitatif) dikontrol oleh banyak gen (*polygenes*) (Nicholas, 1996; Noor, 2008). Gen-gen sifat kuantitatif yang memiliki pengaruh besar merupakan gen-gen disebut sebagai gen utama (*major gene*) yang terletak pada lokus sifat kuantitatif (QTL). Marker gen telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi ternak sapi yang memiliki performa lebih bagus pada beberapa sifat komersil seperti kualitas daging (keempukan) (Barendse, *et al.*, 2008).

Implementasi MAS yang dikombinasikan dengan teknologi reproduksi dalam industri peternakan telah menguasai pasaran genetik dalam bisnis global. Hal ini telah memungkinkan plasma nutfah dari suatu individu menghasilkan keturunan dalam jumlah besar untuk kemudian dievaluasi secara genetik dalam berbagai manajemen dan lingkungan. Kombinasi seleksi menggunakan Marker DNA Terciri (*Marker Assisted Selection/MAS*) dengan teknologi reproduksi dapat memperpendek interval generasi sekitar 45-69 bulan pada sapi (Bishop, *et al.*, 1995) dan mempercepat genetik yang diinginkan pada ternak.

### **Kandidat Gen untuk Sifat Produksi**

Strategi kandidat gen adalah salah satu teknik biologi molekuler untuk mengidentifikasi variasi sifat genetik pada lokus spesifik dan asosiasi antara variasi pada lokus sifat kuantitatif (*Quantitative Traits Loci/QTL*) dengan sifat produksi pada ternak. Beberapa kandidat gen telah diketahui berhubungan dengan pertumbuhan pada ternak, yaitu : *myostatin*, *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), *Pit-1*, *growth hormone* dan *growth hormone receptor* (GHR). Mutasi atau polimorfisme nukleotida tunggal (*single nucleotide polymorphisms/SNP*) pada gen-gen tersebut akan mempengaruhi proses

metabolisme dalam tubuh ternak yang kemudian berpengaruh terhadap laju pertumbuhan pada ternak.

Hormon pertumbuhan (GH) berperan sebagai regulator utama metabolisme dan pertumbuhan setelah kelahiran pada hewan menyusui dan mempengaruhi laju pertumbuhan, komposisi tubuh, kesehatan, produksi susu, dan lama mengeram melalui modulasi banyak gen termasuk *insulin-like growth factor I* (IGF-I) (Sumantran, *et al.*, 1992; Ho dan Hoffman, 1993; Lincoln, *et al.*, 1995). Beberapa peneliti melaporkan pengaruh yang signifikan dari gen hormon pertumbuhan (GH) terhadap pertambahan bobot badan harian pada sapi. Genotipe LL pada gen GH-*AluI* memberikan pertambahan bobot badan harian yang lebih tinggi dari pada genotipe LV pada sapi persilangan antara *Bos taurus* dengan *Bos indicus* (Tambasco, *et al.*, 2003) dan pada sapi Zebu (Rogério, *et al.*, 2006). Polimorfisme gen hormon pertumbuhan berhubungan dengan beberapa sifat produksi pada sapi seperti produksi dan kualitas susu (Lagziel, *et al.* 1996), pertumbuhan (Rocha, *et al.*, 1992; Unanian, *et al.*, 2000) komposisi dan kualitas karkas (Schlee, *et al.*, 1994).

*Growth hormone receptor* (GHR) memediasi aktivitas biologi hormon pertumbuhan pada sel target melalui *transduksi myogenic-stimulating signal* melewati membran sel dan menginduksi beberapa gen termasuk IGF-1 (Rotwein, *et al.*, 1994; Argetsinger dan Carter-Su, 1996). Mutasi pada GHR gen dapat menyebabkan keterlambatan pertumbuhan pada manusia dikenal sebagai GH resisten atau GH insensitif (Rosenbloom, *et al.*, 1997). Oleh karena itu, GH dan GHR gen adalah kandidat gen yang penting untuk mengidentifikasi penanda genetik pertumbuhan, karkas, dan produksi susu pada ternak.

*Growth hormone factor-1/pituitary-specific transcription factor Pit-1* gen juga merupakan salah satu kandidat gen yang telah teruji sebagai sebagai marker genetik. Pit-1 merupakan suatu faktor transkripsi spesifik-pituitary yang bertanggung jawab terhadap pengembangan pituitary dan ekspresi hormon pada mammalia (Cohen, *et al.*, 1997). Hal ini menunjukkan adanya pengontrolan transkripsi terhadap hormon pertumbuhan, prolactin (Nelson, *et al.*, 1988; Mangalam, *et al.*, 1989), *thyroid-stimulation hormon*,  $\beta$ - *subunit* (Simmons, *et al.*, 1990; Steinfelder, *et al.*, 1991), GHRH receptor gen (Lin, *et al.*, 1992), dan Pit-1 gen itu sendiri (Rhodes, *et al.*, 1993).

Beberapa peneliti telah melaporkan asosiasi antara polimorfisme gen Pit-1 dengan sifat produksi pada ternak. Zhao, *et al.*, (2004) melaporkan adanya hubungan yang signifikan antara gen Pit-1E6/*Hinf* dengan berat lahir dan pertumbuhan pra-sapih pada sapi Angus. Pada sapi Friesian Holstein, Pit-1 telah ditemukan berhubungan dengan komposisi dan berat badan serta produksi susu (Renaville, *et al.*, 1997). Pada babi, Pit-1 telah ditemukan berhubungan dengan berat lahir (Yu, *et al.*, 1995), berat sapih dan rata-rata pertambahan berat badan harian (ADG) (Yu, *et al.*, 1995).

Beberapa peneliti telah melaporkan korelasi antara konsentrasi IGF-I dengan berbagai sifat kuantitatif, diantaranya adalah berat sapih, berat pasca-sapih (Davis dan Bioshop, 1994; Davis dan Simmen, 1997), laju pertumbuhan pada babi (Buonomo, *et al.*, 1987), pertumbuhan janin pada domba (Gluckman, *et al.*, 1983), ukuran tubuh, berat janin, total berat placentar, dan berat kelenjar susu pada tikus (Kroonsberg, *et al.*, 1989), dan dengan pertumbuhan pada manusia (Merimee, *et al.*, 1982). Ge, *et al.*, (2003) melaporkan pengaruh yang signifikan gen IGF-I/*SnaBI* terhadap pertambahan bobot badan harian pada



sapi Angus, dimana genotipe BB memberikan pertambahan bobot badan yang lebih tinggi pada masa sapih dan lepas sapih dibandingkan genotipe AB maupun AA.

Leptin adalah regulator penting metabolisme energi, konsumsi pakan, pertumbuhan adiposa dan sifat reproduksi pada sapi. Leptin juga terlibat dalam regulasi berat badan dan dapat dijadikan sebagai salah satu penanda biologi terbaik untuk sifat kegemukan pada binatang dan manusia (Oprzadek, *et al.*, 2003; Münzberg, *et al.*, 2005). Beberapa penelitian telah melaporkan asosiasi antara konsentrasi serum leptin dengan depot adipose karkas dan karakteristik karkas pada sapi (Minton, *et al.*, 1998; Geary, *et al.*, 2003). Polimorfisme gen leptin dapat mempengaruhi pengaturan gen dan mempengaruhi pertambahan berat badan. Beberapa mutasi pada sapi FH berasosiasi dengan produksi susu, konsumsi pakan dan konsentrasi plasma leptin selama kehamilan (Liefers, *et al.*, 2005).

### **Gen Growth Hormone (GH)**

Strategi kandidat gen adalah teknik biologi molekular untuk mengidentifikasi variasi sifat genetik pada lokus spesifik dan asosiasi antara variasi pada lokus sifat kuantitatif (*Quantitative Traits Loci/QTL*) dengan cara biologi molekular. Salah satu kandidat gen pertumbuhan yang dimaksud adalah gen GH (*Growth Hormone*) (Rahim, *dkk.*, 2012).

Hormon pertumbuhan dikenal sebagai somatotropin yang terdiri dari 22.000-dalton hormon polipeptida rantai tunggal, hormon ini disekresikan oleh kelenjar *pituitary* yang berperan penting dalam laktasi (Baldi, 1999). Hormon pertumbuhan atau *growth hormon* (GH) dibutuhkan untuk pertumbuhan jaringan dan metabolisme lemak yang berperan untuk reproduksi, laktasi, dan

pertumbuhan tubuh normal (Burton, *et al.*, 1994). GH pada hewan yang sedang tumbuh berguna untuk meningkatkan efisiensi penggunaan pakan, meningkatkan pertumbuhan organ, dan meningkatkan pertumbuhan tulang (Etherton dan Bauman, 1998). GH berperan dalam pengaturan perkembangan kelenjar mammae pada ternak ruminansia (Akers, 2006). Hubungan tersebut menjadikan hormon pertumbuhan sebagai salah satu kandidat gen yang dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam program seleksi ternak. Hormon pertumbuhan disandikan oleh gen GH.

Gen GH dijadikan sebagai salah satu kandidat gen yang dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam program seleksi ternak dan juga merupakan kandidat gen dalam pengaturan produksi susu, karkas, dan respon imun (Ge, *et al.*, 2003). Sekuens hormon gen GH pada kambing memiliki panjang 2544 pasang basa (pb) (Kioka, *et al.*, 1989). Gen GH terbagi dalam sekuens nukleotida terdiri dari 5 *exon* dan 4 *intron* yang sama pada spesies mamalia yang berbeda (Barta, *et al.*, 2001). Keragaman GH pada kambing lokal yang diidentifikasi dengan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) berhubungan dengan jumlah, jenis, dan frekuensi alel, heterozigositas serta frekuensi genotipe.

### **Analisa Keragaman DNA dengan Teknik PCR-RFLP**

*Polymerase chain reaction* (PCR) adalah suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA tersebut dengan enzim *polymerase* dan oligonukleotida pendek sebagai primer dalam mesin *termocycler*. Primer merupakan oligonukleotida spesifik yang menempel pada bagian sampel DNA yang akan diperbanyak. Enzim *polymerase* merupakan

enzim yang dapat mencetak urutan DNA baru (Williams, 2005). Beberapa faktor seperti konsentrasi DNA, ukuran panjang primer, komposisi basa primer, konsentrasi ion Mg, dan suhu hibridasi primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik (Suryanto, 2003).

Proses yang terjadi dalam mesin PCR meliputi tiga tahap utama, yaitu tahap pradenaturasi, tahap kedua yang terdiri dari 35 siklus yang masing-masing siklus terdiri dari denaturasi (pemisahan untai ganda DNA), penempelan (*annealing*), ekstensi awal molekul DNA, dan tahap terakhir adalah ekstensi akhir. Produk PCR dapat langsung divisualisasikan melalui proses elektroforesis dan dapat digunakan untuk analisa lebih lanjut (Muladno, 2002).

Elektroforesis merupakan metode standar untuk memisahkan dan mengidentifikasi fragmen DNA sesuai dengan ukurannya. Prinsip dasarnya adalah jika molekul DNA yang bermuatan negatif ditempatkan pada penghantar listrik (*buffer*), molekul akan bergerak menuju muatan positif. Molekul DNA yang bermuatan kecil akan bergerak cepat daripada yang berukuran besar. Ukuran fragmen DNA hasil elektroforesis dapat diketahui dengan menggunakan penanda ukuran (*marker*) yang salah satunya didapat dari lambda yang telah dipotong oleh enzim restriksi (Muladno, 2001).

Karakteristik-karakteristik dari PCR adalah efisiensi, spesifitas dan nilai eror/kesalahan. Efisiensi dari amplifikasi PCR tergantung pada banyaknya variabel, beberapa diantaranya jumlah siklus, jumlah target asli, panjang sekuens target yang diamplifikasi dan temperatur primer untuk *annealing* dan ekstensi. Spesifitas PCR terutama tergantung pada sekuens target, temperatur *annealing*, jumlah DNA *polymerase* yang digunakan dan polimerisasi setiap siklus. Sedangkan nilai eror/kesalahan merupakan hal yang penting dimana

hasil amplifikasi menggambarkan kopian DNA sekuens target yang tepat dan juga mempunyai beberapa kesalahan, khususnya ketika hasil dianalisa oleh hibridasi asam nukleat atau sekuens nukleotida (Guatelli, *et al*, 1989).

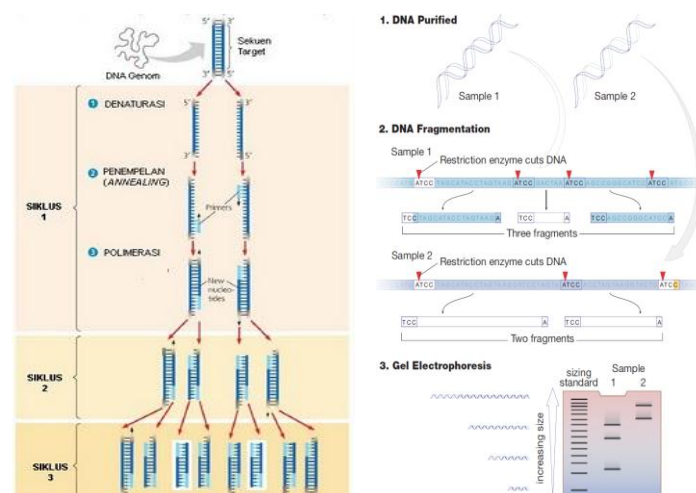
Keunggulan metode PCR adalah kemampuannya dalam melipatgandakan suatu fragmen DNA sehingga dapat mencapai  $10^9$  kali lipat. Dengan demikian kontaminasi fragmen DNA dalam jumlah sangat sedikit sekalipun dapat menyebabkan terjadinya kesalahan yaitu dengan didapatkannya produk amplifikasi yang tidak diinginkan (Yuwono, 2006).

Perbedaan pola pemotongan DNA dari jenis gen yang sama antar beberapa ternak disebut *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). RFLP merupakan perbedaan pada homolog urutan DNA yang dapat dideteksi dengan menggunakan adanya perbedaan fragmen DNA yang telah dipotong dengan menggunakan enzim endonuklease tertentu. RFLP digunakan sebagai marker molekular karena spesifik untuk setiap tunggal atau kombinasi dari enzim restriksi. Tahapan RFLP meliputi 4 tahap yaitu isolasi DNA, pemotongan DNA dengan enzim restriksi endonuklease, elektroforesis hasil pemotongan DNA dan *southern blot* (Fanani, 2011).

Pada prinsipnya RFLP merupakan semua mutasi yang menghilangkan atau menciptakan sekuens rekognisi baru bagi enzim restriksi. Penyisipan (insersi), penghilangan (delesi), maupun substitusi nukleotida yang terjadi pada daerah rekognisi suatu enzim restriksi menyebabkan tidak lagi dikenalnya situs pemotongan enzim restriksi dan terjadinya perbedaan pola pemotongan DNA (Lewin, 1994). Metode RFLP telah diterapkan untuk mendeteksi *Quantitative Traits Loci* (QTL) pada ternak. Pendeteksian RFLP telah dikembangkan dan digunakan untuk studi *linkage* pada ternak seperti sapi, ayam dan babi.

Pendeteksian RFLP dilakukan pada sekuen DNA yang telah diketahui fungsinya, misalnya gen (penyandi protein), dan juga pada sekuen DNA yang belum jelas fungsinya (Montgomery dan Kinghorn, 1997).

Menurut Suryanto (2003), PCR-RFLP digunakan untuk melihat polimorfisme dalam genom organisme dengan menggunakan suatu enzim pemotong tertentu (enzim restriksi), karena sifatnya spesifik, maka enzim ini akan memotong situs tertentu yang dikenali oleh enzim ini. Situs enzim pemotong dari genom suatu kelompok organisme yang kemudian berubah karena mutasi atau berpindah karena *genetic rearrangement* dapat menyebabkan situs tersebut tidak lagi dikenali oleh enzim atau enzim restriksi akan memotong daerah lain yang berbeda. Proses ini menyebabkan terbentuknya fragmen-fragmen DNA yang ukurannya berbeda dari satu organisme ke organisme lainnya. Polimorfisme ini selanjutnya digunakan untuk membuat pohon filogeni kekerabatan kelompok. RFLP ditentukan ketika amplikon dipotong dengan enzim *Alu I*, *Rsa I*, *Taq I* dan *Hinf I* (Jain, 2004).



Gambar 1. Teknik PCR-RFLP (Muladno, 2001)

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Mei 2013, bertempat di Laboratorium Bioteknologi Terpadu, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

### **Materi Penelitian**

Materi utama penelitian ini adalah DNA Genom yang diperoleh dari darah kambing Kacang sebanyak 47 sampel darah. DNA genom kemudian diekstraksi dengan menggunakan Kit DNA Ekstraksi Genjet Genomic DNA Extraction untuk mendegradasi dinding sel dan mendegradasi protein dan lemak. Sampel DNA kemudian siap dilanjutkan untuk reaksi PCR.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan antara lain : Kit DNA Ekstraksi, venoject, tabung vakuttainer, centrifuge, alat pendingin, tabung eppendorf besar kecil, gel documentation, mikropipet, tip, rak tabung, elektroforesis, autoclave, timbangan, sarung tangan.

Bahan utama yaitu sampel DNA yang diambil dari darah utuh (*whole blood*) kambing Kacang yang berasal dari Kabupaten Jeneponto dengan jumlah 47 sampel. Bahan-bahan pendukung antara lain : Primer (Primer gen GH), Enzim restriksi *HaeIII*, Bahan Ekstraksi DNA (Proteinase K, Ethanol Absolut, Buffer Lysis, Wash buffer A&B), Bahan PCR (dNTP mix, Enzim Taq DNA polymerase), Bahan Elektroforesis (Triss Base, asam borat, agarose, Na<sub>2</sub> EDTA, Ethidium bromide, Marker DNA, DNA Loading dye), tissue dan plastik mika.

## Metode Penelitian

### *Koleksi Sampel Darah*

Sampel darah diperoleh dari Kabupaten Jeneponto. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan mengumpulkan sekitar 5 ml sampel darah dari kambing melalui *vena jugularis* dengan menggunakan *venojet* dan tabung *vacuttainer* dengan EDTA dan kemudian disimpan pada suhu 4°C.

### *Ekstraksi DNA*

DNA diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan Kit DNA ekstraksi Genjet Genomic DNA Extraction (Thermo Scientific) dengan mengikuti protokol ekstraksi yang disediakan. Sebanyak 200 µl sampel darah dilisiskan dengan menambahkan 400 µl larutan *lysis buffer* dan 20 µl proteinase K (10 mg/ml), campuran kemudian diinkubasi pada suhu 56°C selama 60 menit didalam *waterbath shaker*. Setelah inkubasi larutan kemudian ditambahkan 200 µl ethanol absolute 96% dan disentrifugasi 6.000 x g selama 1 menit.

Pemurnian DNA dilakukan dengan metode *spin column* dengan penambahan 500 µl larutan pencuci *wash buffer* I yang kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8.000 x g selama 1 menit. Setelah supernatannya dibuang, DNA kemudian dicuci lagi dengan 500 µl *wash buffer* II dan disentrifugasi pada 12.000 x g selama 3 menit. Setelah supernatan dibuang, DNA kemudian dilarutkan dalam 200 µl *elution buffer* dan disentrifugasi pada 8.000 x g untuk selanjutnya DNA hasil ekstraksi ditampung dan disimpan pada suhu -20°C.

### *Teknik PCR-RFLP*

Komposisi reaksi PCR dikondisikan pada volume reaksi 25  $\mu$ l yang terdiri atas 100 ng DNA, 0.25 mM masing-masing primer, 150  $\mu$ M dNTP, 2.5 mM  $Mg^{2+}$ , 0.5 Taq DNA polymerase dan 1x buffer. Kondisi mesin PCR dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 94°C x 2 menit, diikuti dengan 35 siklus berikutnya masing-masing denaturasi 94°C x 45 detik, dengan suhu annealing yang berbeda-beda diantara gene target yaitu : 65 °C x 30 detik (GH), yang dilanjutkan dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dengan menggunakan mesin PCR (SensoQuest, Germany). Produk PCR kemudian di elektroforesis pada gel agarose 1,5% dengan buffer 1x TBE (89 mM Tris, 89 mM asam borat, 2 mM  $Na^2EDTA$ ) yang mengandung 100 ng/ml ethidium bromide. Kemudian divisualisasi pada UV transiluminator (*gel documentation system*). Alel ditentukan dengan cara menginterpretasi pita (*band*) yang berbentuk paling jauh migrasinya ke kutub anoda sebagai alel 1, alel 2, dan seterusnya.

Produk PCR yang diperoleh dari masing-masing gen target kemudian dianalisis menggunakan RFLP melalui pemotongan menggunakan enzim restriksi yang memiliki situs pemotongan pada gen GH|*HaeIII*. Sebanyak 4  $\mu$ l DNA produk PCR ditambahkan 0,5  $\mu$ l, selanjutnya dilakukan inkubasi selama 17 jam pada suhu 37°C.

Tabel 1. Sequen primer beserta enzim restriksi endonuklease untuk PCR-RFLP

Jenis Primer	Sekuen DNA	Enzim Restriksi	Sumber
GH	F : 5'-CTCTGCCTGCCCTGGACT -3' R : 5'-GGAGAAGCAGAAGGCAACC -3'	<i>HaeIII</i>	Hua, <i>et al.</i> , 2009



### Analisa Data

Keragaman genotipe tiap-tiap individu dapat ditentukan dari pita-pita DNA gen yang ditemukan. Masing-masing sampel dibandingkan berdasarkan ukuran (marker) yang sama dan dihitung frekuensi alelnya. Frekuensi alel bisa dihitung dengan menggunakan rumus Nei dan Kumar (2000) :

$$X_{ii} = \frac{n_{ii}}{N} \times 100\% \qquad X_i = \frac{\left(2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij}\right)}{2N}$$

Keterangan :

$X_{ii}$  = Frekuensi Genotip;  $X_i$  = Frekuensi alel ke-i;  $n_{ii}$  = Jumlah sampel yang bergenotif ii;  $n_{ij}$  = Jumlah sampel yang bergenotif ij;  $n$  = Jumlah sampel

Keseimbangan Hardy-Weinberg (HWE) dengan uji chi-square ( $X^2$ ) menurut Hartl (1988) sebagai berikut :

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Keterangan :  $\chi^2$  = chi-square ;  $O$  = jumlah pengamatan genotipe ke-i;  $E$  = jumlah harapan genotipe ke-ii

Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) berdasarkan rumus heterozigositas Nei dan dihitung dengan menggunakan *software* PopGene32 versi 1.31 (Yeh, *et al.*, 1999).

$$H_o = \sum_k^s w_k \sum_{i \neq j}^q X_{kij} \qquad H_e = 1 - \sum_k^s w_k \sum_i^q x_{ki}^2$$

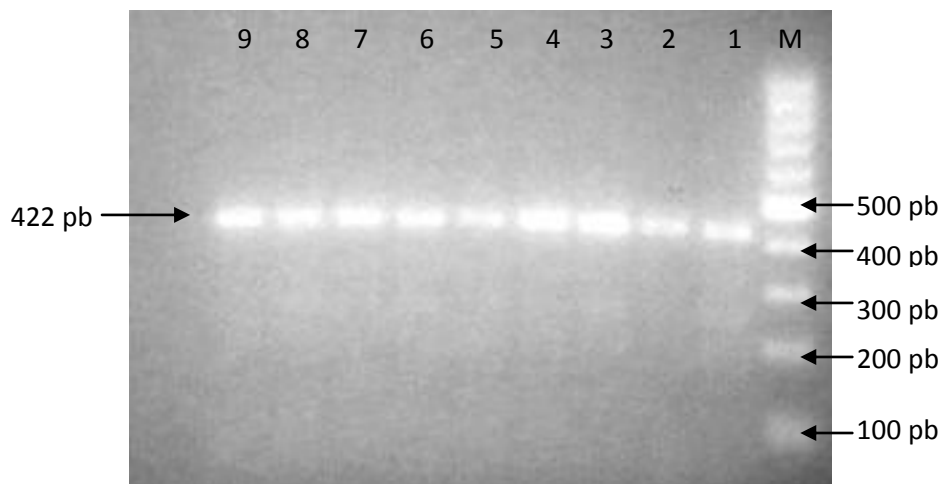
Keterangan :

$H_o$  = heterozigositas pengamatan diantara populasi;  $H_e$  = heterozigositas harapan diantara populasi;  $w_k$  = ukuran relatif populasi;  $X_{kij}$  ( $i \neq j$ ) = frekuensi  $A_i A_j$  pada populasi ke- $k$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Amplifikasi Gen GH | *Hae*III

Gen GH | *Hae*III pada kambing Kacang berhasil di amplikasi dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Hasil amplifikasi gen GH pada gel agarose 1,5% dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Hasil Amplifikasi Gen GH | *Hae*III dengan PCR dalam Gel Agarose 1,5%. M:Marker (100 pb); 1-9 : sampel kambing Kacang dari Kabupaten Jeneponto; pb : pasang basa

Panjang fragmen gen GH | *Hae*III pada penelitian ini yaitu 422 pb. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hua, *et al* (2009), bahwa panjang gen GH | *Hae*III hasil amplifikasi dengan pasangan basa primer adalah 422 pb. Panjang fragmen hasil amplifikasi dapat diketahui dengan cara mencocokkan situs penempelan pasangan primer pada sekuens gen GH | *Hae*III (GenBank nomor akses JN012229.1) (Lampiran 1).

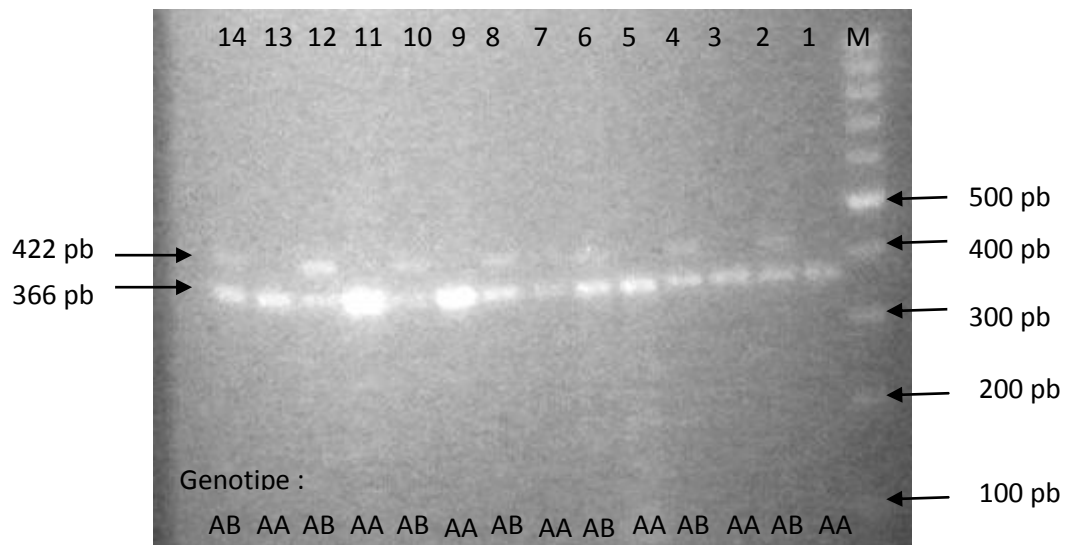
Beberapa hal yang umum dilakukan untuk optimasi PCR diantaranya adalah suhu *annealing* (penempelan primer), konsentrasi  $Mg^{2+}$ , konsentrasi primer, dan konsentrasi DNA target (Viljoen, *et al.*, 2005). Suhu *annealing* adalah suhu yang memungkinkan terjadinya penempelan primer pada DNA cetakan selama proses PCR. Suhu *annealing* sangat menentukan keberhasilan

amplifikasi karena proses perpanjangan DNA dimulai dari primer. Suhu *annealing* (penempelan primer) yang digunakan pada penelitian ini yaitu 65°C x 30 detik. Hasil PCR yang baik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer yang digunakan, serta ketepatan kondisi PCR. Primer merupakan bagian yang penting dalam PCR karena primer merupakan inisiator pada sintesis DNA target. Syarat-syarat yang harus dipenuhi di dalam menyusun suatu primer adalah terdiri dari 20 basa, kandungan G/C-nya 50%. Ketepatan kondisi PCR ditentukan oleh ketepatan campuran reaksi dan ketepatan kondisi suhu pada masing-masing siklus (Rahayu, *dkk.*, 2006).

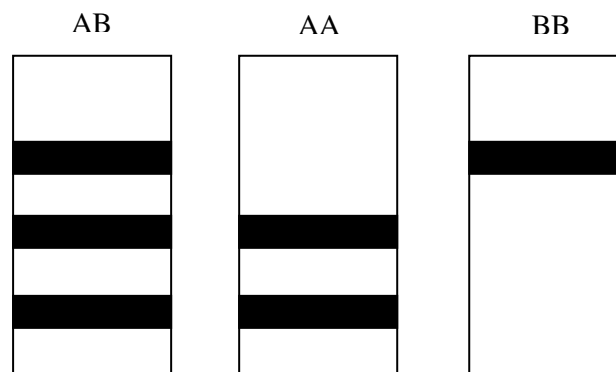
### **Keragaman Gen GH | *HaeIII***

Pendeteksian keragaman gen GH | *HaeIII* dengan metode PCR-RFLP dibedakan berdasarkan banyaknya pita yang muncul dan laju migrasi fragmen DNA. Genotipe gen GH | *HaeIII* yang ditemukan dalam penelitian ini memiliki jumlah pita dibawah empat.

Gen GH | *HaeIII* pada penelitian ini yang ditemukan pada kambing Kacang bersifat polimorfik (beragam), karena ditemukan dua genotipe pada gen GH | *HaeIII* yaitu AB dan AA, namun tidak ditemukan homozigot BB pada kambing Kacang. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Hua, *et al* (2009) yang menyatakan bahwa pada GH *Exon* 2 dan 3 ditemukan genotipe heterozigot AB dan genotip homozigot AA, sedangkan genotipe homozigot BB tidak ditemukan pada individu tersebut. Hasil pendeteksian keragaman gen GH | *HaeIII* dapat dilihat pada Gambar 2, sedangkan rekonstruksi hasil elektroforesis genotipe gen GH | *HaeIII* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Pendeteksian Keragaman Gen GH|*Hae*III; 1-14 : sampel kambing Kacang dari Kabupaten Jeneponto



Gambar 4. Rekonstruksi Genotipe Gen GH | *Hae*III

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu masing-masing genotipe dibedakan berdasarkan jumlah pita yang muncul dalam gel agarose 2%. Genotipe AB ditandai dengan adanya 3 pita dan genotipe AA ditandai dengan adanya 2 pita. Fragmen restriksi DNA yang diperoleh yaitu 366 dan 56 bp untuk genotipe AA dan 422,366 dan 56 bp untuk genotipe AB, sedangkan untuk fragmen 56 bp tidak terlihat dalam gel. Kondisi tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hua, *et al* (2009) yang menemukan dua genotipe yang mempresentasikan dua alel yaitu AB dan AA serta alel A dan B, visualisasi gen GH pada lokus A781G pada gel agarose, fragmen 366 untuk

genotipe AA, 422 dan 366 untuk genotipe AB, sedangkan fragmen 56 bp tidak terlihat dalam gel.

Pada penelitian Rahayu, *dkk* (2006), menunjukkan adanya polimorfisme pada fragmen gen GH dengan menggunakan enzim *Hae*III pada sapi Bali dengan adanya 4 macam variasi pola potongan DNA hasil restriksi. Unanian, *et al* (1994) juga menemukan adanya polimorfisme pada gen GH pada posisi 2637. Polimorfisme juga ditemukan oleh Dybus (2002) pada sapi *black and white*. Genotipe dari sapi *black and white* ini sangat berhubungan dengan produksi susu. Sorensen, *et al* (2002) mendapatkan adanya polimorfisme gen GH pada sapi Danish Holstein, Danish Red dan Danish Jersey. Polimorfisme ini berhubungan erat dengan sekresi GH.

Pada penelitian Irine (2011), menunjukkan adanya keragaman pada kambing perah PE, Saanen dan PESA dengan metode PCR-SSCP, ditemukannya dua genotipe pada gen GH *Exon 2* yaitu AB dan AA. Sedangkan pada GH|*Alu*I bersifat monomorfik pada Kerbau dengan frekuensi alel (L) sebesar 1,0 (Sumantri, *dkk.*, 2010).

Pendeteksian keragaman gen GH | *Hae*III dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction-restriction fragmen length polymorphism* (PCR-RFLP). Metode PCR-RFLP merupakan metode yang digunakan sebagai marker molekular karena spesifik untuk setiap tunggal atau kombinasi dari enzim restriksi (Fanani, 2011), karena sifatnya yang spesifik, maka enzim ini akan memotong situs tertentu yang dikenali oleh enzim ini, proses ini menyebabkan terbentuknya fragmen-fragmen DNA yang ukurannya berbeda dari suatu organisme ke organisme lainnya (Suryanto, 2003). Persentase

keberhasilan pendeteksian keragaman dengan PCR-RFLP adalah 100% dari 47 sampel DNA.

Tahapan dari metode PCR-RFLP terdiri dari amplifikasi DNA target dengan menggunakan mesin *termocycler*, denaturasi DNA produk PCR pada suhu 94°C, dan tahap elektroforesis dalam gel agarose 1,5%. Tahap denaturasi yang sempurna akan sangat berpengaruh terhadap hasil elektroforesis. Denaturasi sampel yang tidak sempurna akan menyebabkan kesulitan dan kesalahan dalam melakukan identifikasi tipe maupun penentuan genotipe dari suatu sampel.

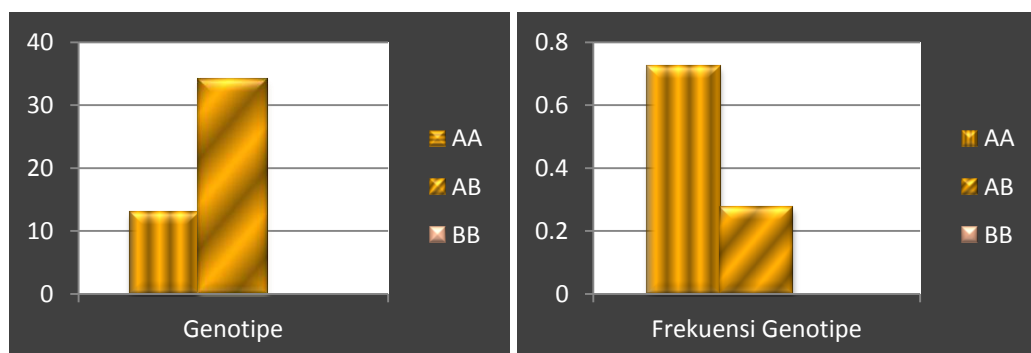
Beberapa faktor seperti konsentrasi DNA, ukuran panjang primer, komposisi basa primer, konsentrasi ion  $Mg^{2+}$  dan suhu hibridasi primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik (Suryanto, 2003).

### Frekuensi Genotipe dan Alel

Hasil analisis frekuensi genotipe pada fragmen gen GH pada kambing Kacang dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 4. Keragaman genetik terjadi apabila terdapat dua alel atau lebih dalam suatu populasi (Nei dan Kumar, 2000).

Tabel 2. Frekuensi Genotipe Gen GH | *Hae*III

Bangsa Kambing	Lokasi	Genotipe			Total	Frekuensi Genotipe		
		AA	AB	BB		AA	AB	BB
Kacang	Jeneponto	13	34	0	47	0,276	0,723	0,0



Gambar 5. Jumlah Genotipe dan Frekuensi Genotipe Gen GH | *Hae*III

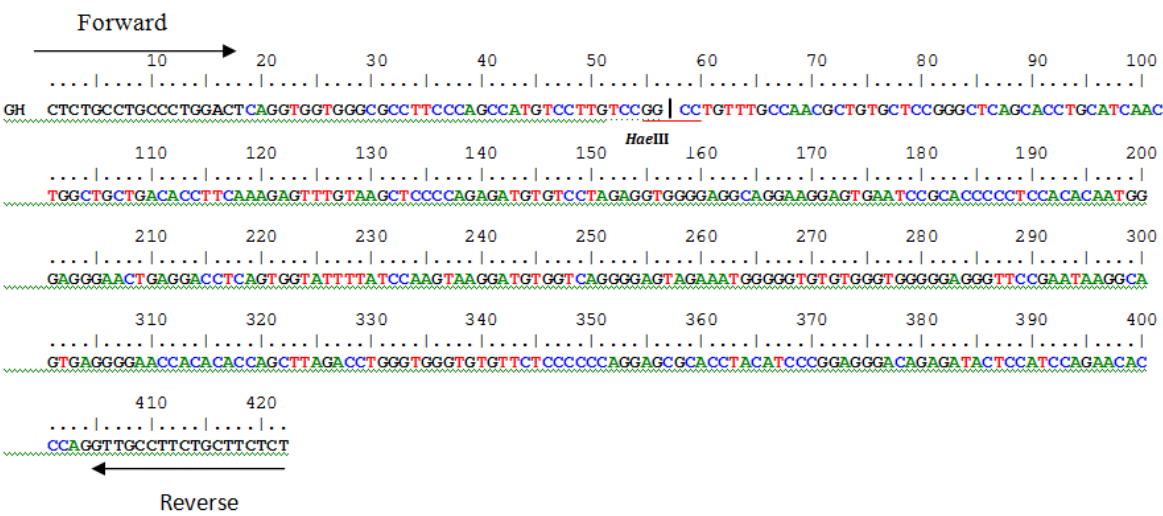
Frekuensi genotipe fragmen gen GH | *HaeIII* pada kambing Kacang memiliki genotipe AB lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe AA, sedangkan genotipe BB tidak ditemukan pada Kambing Kacang. Kondisi seperti ini juga diperoleh oleh Hua, *et al* (2009) yang menghasilkan frekuensi genotipe AB yang lebih tinggi dari frekuensi genotipe AA yaitu 0,8377 dan 0,1623, tetapi tidak ditemukannya homozigot BB dalam individu tersebut.

Menurut Zhang, *et al* (2011) menyatakan bahwa frekuensi genotipe AB lebih tinggi dibandingkan AA. Penelitian sebelumnya pada gen GH juga mengungkapkan hal ini pada kambing Boer (Hua, *et al*, 2009), seperti juga dilaporkan di Chengdu-Ma (n = 37) dan kambing Boer (n = 29) (Bai, *et al*, 2005), dan dalam populasi Gannan Yak (n = 202) (Bai *et al*, 2009). Polimorfisme juga terdeteksi dalam populasi kambing lainnya, seperti kambing Lubei Putih (n = 50) dan pada generasi pertama Kambing Lubei Putih dan Boer (n = 105) (Li, *et al*, 2004). Di sisi lain, genotipe homozigot BB tidak ditemukan pada setiap individu apapun. Semua menyatakan, genotipe BB dan DD tidak hadir baik pada individu betina maupun jantan dalam tujuh keturunan kambing, ini termasuk *purebreeds* dan *crossbreed*. Hal ini cukup mengkonfirmasi dalam literatur bahwa gen GH sangat penting untuk fungsi reproduksi yang normal termasuk oogenesis, perkembangan folikel dan embriogenesis (Sirotkin, *et al*, 2003). Dengan demikian, dapat diduga bahwa genotipe homozigot BB dan DD mutasi pada gen GH dapat menimbulkan gangguan reproduksi, bahkan sampai infertilitas.

Frekuensi genotipe fragmen gen GH *Exon 2* pada kambing PE memiliki genotipe AA lebih tinggi dibanding dengan genotipe AB, sedangkan pada

kambing Saanen dan PESA yang memiliki frekuensi genotipe AB lebih tinggi (Irine, 2011).

Pendeteksian keragaman gen GH | *Hae*III dengan metode PCR-RFLP dengan *Hae*III sebagai enzim pemotong. Enzim *Hae*III mengenali situs pemotongan GG|CC. Runutan sequen GH Exon 2 dan 3 yang diamati dari primer yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 6. Runutan nukleotida gen GH *Exon* 2 dan 3

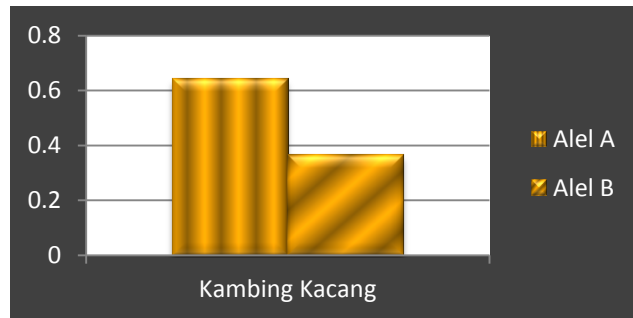
Frekuensi alel adalah frekuensi relatif dari suatu alel dalam populasi atau jumlah suatu alel terhadap total alel yang terdapat dalam suatu populasi (Nei dan Kumar, 2000). Frekuensi alel dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 6.

Tabel 3. Frekuensi Alel Gen GH | *Hae*III

Bangsa Kambing	Lokasi	Total	Frekuensi Alel		$\chi^2$
			A	B	
Kacang	Jeneponto	47	0,638	0,36	14,579**

Keterangan :  $\chi^2$  0,01 = 6,64 ; \*\* (sangat berpengaruh nyata)





Gambar 7. Frekuensi Alel Gen GH | *HaeIII*

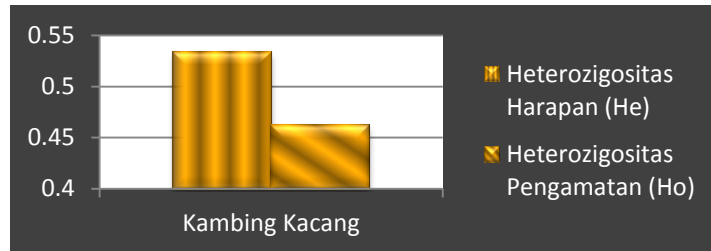
Tabel 3 dan Gambar 6 menunjukkan frekuensi alel A dan B pada gen GH | *HaeIII* bersifat polimorfik sesuai dengan Nei (1987) yang mengatakan bahwa suatu alel dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99. Hasil analisis data tersebut memperlihatkan bahwa populasi kambing Kacang memiliki frekuensi alel A yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel B. Hal tersebut tidak ditemukannya genotipe BB pada bangsa kambing Kacang. Kemungkinan tidak ditemukannya genotipe BB di dalam populasi kambing ini karena terdapat keterbatasan pejantan yang digunakan atau disebabkan oleh banyaknya pejantan bergenotipe BB yang dipotong sehingga tersisa hanya bergenotipe AA ataupun AB.

### Nilai Heterozigositas

Keragaman genetik adalah penyimpangan sifat atau karakter dari individu yang terjadi karena perkawinan alami yang tidak terkontrol. Keragaman genetik dapat dilihat dari karakter alel dari lokus tertentu yang merupakan ekspresi dari gen tertentu (Johari, *dkk.*, 2007). Keragaman genetik dapat dilihat berdasarkan nilai heterozigositas. Nilai heterozigositas merupakan cara yang paling tepat untuk mengukur keragaman genetik suatu populasi (Nei, 1987). Hasil analisis nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigostitas harapan ( $H_e$ ) gen GH | *HaeIII* dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 7.

Tabel 4. Nilai Heterozigositas Gen GH | *Hae*III

Bangsa Kambing	Lokasi	Total	Heterozigositas Pengamatan	Heterozigositas Harapan
Kacang	Jeneponto	47	0,5333	0,4617



Gambar 8. Nilai Heterozigositas Gen GH | *Hae*III

Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) digunakan untuk menduga keragaman genetik. Heterozigositas harapan ( $H_e$ ) merupakan penduga keragaman genetik yang tepat pada populasi hewan ternak karena perhitungannya langsung berdasarkan pada frekuensi alel (Moioli, *et al.*, 2004). Nilai  $H_o$  dan  $H_e$  untuk gen GH | *Hae*III masing-masing sebesar 0,5333 dan 0,4617. Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) lebih tinggi daripada nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ). Menurut Tambasco, *et al* (2003), perbedaan antara nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) dapat dijadikan indikator adanya ketidakseimbangan genotipe pada populasi yang diamati. Ketidakseimbangan itu mengindikasikan bahwa sudah ada kegiatan seleksi yang dilakukan. Pada kasus ini, ketidakseimbangan kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya perkawinan secara acak karena terbatasnya jumlah pejantan.

Perhitungan nilai heterozigositas berdasarkan kaidah Nei (1987) bahwa nilai heterozigositas berkisar antara 0 (nol) sampai 1 (satu), apabila nilai heterozigositas sama dengan 0 (nol) maka diantara populasi yang diukur memiliki hubungan genetik yang sangat dekat dan apabila nilai heterozigositas

sama dengan 1 (satu) maka diantara populasi yang diukur tidak terdapat hubungan genetik atau pertalian genetik sama sekali.

Tingginya nilai heterozigositas pada populasi kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto, menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Nei (1987) menyatakan bahwa nilai heterozigositas ditentukan oleh jumlah sampel, jumlah dan nilai frekuensi.

Faktor yang mempengaruhi tingginya nilai heterozigositas pada populasi kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto disebabkan oleh perkawinan acak atau peluang *inbreeding* yang rendah.

### **Keseimbangan Hardy-Weinberg**

Suatu populasi dikatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg yaitu jika frekuensi genotipe dan frekuensi alel selalu konstan dari generasi ke generasi berikutnya. Hal ini terjadi sebagai penggabungan gamet secara acak dalam populasi yang besar (Vasconcellous, *et al.*, 2003). Keseimbangan gen dalam populasi terjadi jika tidak ada seleksi, mutasi, migrasi dan *genetic drift* (Falconer dan Mackay, 1996).

Pengujian keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg pada populasi kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto dilakukan dengan menggunakan uji chi-square untuk mengetahui apakah data pengamatan diperoleh menyimpang atau tidak menyimpang dari yang diharapkan. Pada penelitian ini (Tabel 3) menunjukkan bahwa frekuensi alel gen GH | *HaeIII* pada populasi kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto dalam ketidakseimbangan Hardy-Weinberg ( $P < 0,01$ ). Kondisi tersebut menggambarkan adanya ketidakseimbangan populasi menurut hukum Hardy-Weinberg dimana frekuensi gen dan genotip yang tidak tetap dari generasi ke generasi. Ketidakseimbangan itu mengindikasikan bahwa

sudah ada kegiatan seleksi yang dilakukan. Pada kasus ini, ketidakseimbangan kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya perkawinan secara acak karena terbatasnya jumlah pejantan. Ketidakseimbangan populasi juga dimungkinkan karena tidak terkontrolnya sistem perkawinan sehingga ada peluang terjadinya seleksi.

## PENUTUP

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dengan metode PCR-RFLP (*Polymerase chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Gen GH | *Hae*III pada populasi kambing Kacang di Kabupaten Jeneponto bersifat polimorfik. Pada gen GH | *Hae*III diperoleh hasil yaitu genotipe AB sebanyak 34 dan genotipe AA sebanyak 13 dan diperoleh alel A dan B dengan masing-masing frekuensi alel yaitu 0,638 dan 0,36.
2. Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) untuk gen GH | *Hae*III masing-masing yaitu 0,5333 dan 0,4617. Frekuensi alel dari gen GH | *Hae*III di populasi Kabupaten Jeneponto berada dalam ketidaksetimbangan Hardy-Weinberg.

### Saran

Berdasarkan kesimpulan penelitian ini, maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan yang berhubungan dengan pertumbuhan pada kambing Kacang misalnya bobot badan. Selain itu, diperlukan data yang berhubungan dengan genetika kambing agar program seleksi terarah dan diperlukan perhatian dari peternak untuk memperhatikan *recording* pada setiap ternak yang dimiliki.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akers, R.M. 2006. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cow. *J. Dairy Sci.* 89:1222-1234.
- Anonim. 2007. *Tujuh Plasma Nutfah Kambing Lokal Indonesia*. Edisi 25 April-1 Mei.
- Argetsinger, L. S., and C. Carter-Su. 1996. Mechanism of signaling by growth hormone receptor. *Physiol. Rev.* 76:1089–1107.
- Bai WL., Wang J., and Yin RY. 2005. Study on genetic polymorphism of HaeIII site of GH gene in Chengdu-Ma goat and Boer goat. *Heilongjiang Anim Sci and Vet Med.* 8:13-14.
- Bai JJ., Wang JQ., Hu J., and Luo YZ. 2009. SNPs detection of growth hormone gen in Gannan Yak population. *China Cattle Sci.* 25:1-5.
- Baldi, A. 1999. Manipulation of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17: 131-137.
- Barendse W, Harrison BE, Bunch RJ, and Thomas MB. 2008. Variation at the calpain 3 gene is associated with meat tenderness in Zebu and composite breeds of cattle. *BMC Genet* 9:41.
- Barta, C., Z. Ronai, M. Szekely-Sasvari and A. Guttman. 2001. Rapid single nucleotide polymorphism analysis by primer extension and capillary electrophoresis using polyvinyl pyrrolidone matrix. *Electrophoresis* 22: 779-782.
- Becker WM, Kleinsmith LJ, Hardin J. 2000. *The World of the Cell*. Ed 4<sup>th</sup>. The Benjamin Publishing Company.
- Bishop, M.D., Hawkins, G.A., and Keener, C.L. 1995. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology* 43:61.
- Buonomo, F. C., Lauterio, T. J., Baile, C. A., and Champion, D. R. 1987. Determination of insulin-like growth factor-I and IGF binding protein levels in swine. *Dom. Anim. Endocrinol.* 4:23.
- Burton, J.L., B. W. McBride, E. Block and D. R Glimm. 1994. A review of bovine growth hormone. *Can J. Anim. Sci.* 74: 167-201.
- Cohen, L. E., F. E. Wondisford, and S. Radovick. 1997. Role of pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 25:523–54.
- Davendra, C. and G.B McLeroy. 1982. *Goat and Sheep Production in the Tropics*. Longman Group Limited. Harlow, Essex, UK.

- Davis, M. E. and Bioshop, M. D. 1994. A note on consequences of single-trait selection for insulin-like growth factor-1 in beef heifers. *Anim. Prod.* 59:315.
- Davis, M.E., and R. C. M. Simmen. 1997. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor I concentration and performance traits in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 75:317–324.
- [Ditjennak] Direktorat Jenderal Peternakan. 2010. *Buku Statistik Peternakan*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Diyono, R. 2009. Karakteristik Ukuran Tubuh dan Polimorfisme gen GH, GHRH dan Pit-1 pada Populasi Kerbau di Banten. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dybus A, 2002. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black and White Cattle. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 45 (5):421-428.
- Etherton, T. D. and D. E. Bauman. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physical Rev.*, 78: 745-761.
- Falconer, D.S and T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetic*. 4th Ed. Essex, England: Longman Group Ltd.
- Fanani, M.Z. 2011. Teknologi Analisis Molekular menggunakan Metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) : Aplikasinya dalam diagnosis Spesies *Candida*. <http://mazfanani.wordpress.com/2011/04/25/> [16 Februari 2013].
- Gall, C. 1981. *Goat Production*. Academic Press Inc. Ltd. London.
- Ge, W., M. E. Davis, H.C. Hines, K.M. Irvin and R.C.M. Simmen. 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 81: 641-648.
- Geary, T.W., E.L. McFadin, M.D. MacNeil, E.E. Grings, R.E. Short, R.N. Funston and D.H. Keisler. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *J. Animal Sci.* 8 : 1–8.
- Gluckman, P. D., Johnson-Barrett, J. J., Butler, J. H., Edgar, B. W., and Gunn, T. R. 1983. Studies of insulin-like growth factor-I and -II by specific radioligand assays in umbilical cord blood. *Clin. Endocrinol.* 19:405.
- Guatelli JC, Gingeras TR, and Richman DD. 1989. Nucleic acid amplification in vitro: detection of sequences with low copy numbers and application to diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2 (2): 217-226.

- Hartl, D.L. 1988. Principle of Population Genetic. Sunderland: Sinaver Associates, Inc. Publisher.
- Heriyadi, D. 2001. Teknik Produksi Ternak Ruminansia. Departemen Pendidikan Nasional. Proyek Pengembangan Sistem dan Standar Pengelolaan SMK Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan, Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 2004. Standarisasi Mutu Bibit Kambing Peranakan Etawah. Kerjasama Penelitian antara Dinas Peternakan Provinsi Jawa Barat dengan Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran, Bandung.
- Ho, K. K. Y., and D. M. Hoffman. 1993. Aging and growth hormone. *Horm. Res.*40:80–86.
- Hua G.H., S.L.Chen., J.N.Yu., K.L.Cai., C.J.Wu., Q.L.Li., A.x.Liang., L.Han., L.Y.Geng., Z.Shen., D.Q.Xu and L.G. Yang. 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and it's association with growth traits in Boer goat bucks. *Meat Science* 8:391-395.
- Irine. 2011. Identifikasi Keragaman Gen Hormon Pertumbuhan (*Exon 2*) pada Kambing Peranakan Etawah (PE), Saanen dan Persilangannya (PESA) dengan Metode PCR-SSCP. Skripsi. IPB. Bogor.
- Jain S. 2004. Use of Cytochrome b Gene Variability In Detecting Meat Species By Multiplex PCR Assay (Thesis). Arand. Departement of Veterinary Public Health, College of Veterinary Science And Animal Husbandry, Anand Agricultural University.
- Johari S., E. Kurnianto, Sutopo dan S. Aminah. 2007. Keragaman protein darah sebagai parameter biogenetik pada sapi Jawa. *Journal Indonesian Tropical Agriculture*, 32[2] Juni 2007. Universitas Diponegoro. Semarang. hal:112-118.
- Kioka, N., E. Manabe, M. Abe, H. Hashi, M. Yato, M. Okuno, Y. Yamano, H. Sakai, T. Kumano, K. Utsumi and A. Iritani. 1989. Cloning and sequencing of goat growth hormone gene. *Agric. Biol. Chem.* 53: 1538-1592. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/D00476> [16 Februari 2013].
- Kroonsberg, C., McCutcheon, S. N., Siddiqui, R. A., Mackenzie, D. D. S., Blair, H. T., Ormsby, J. E., Breier, B. H., and Gluckman, P. D. 1989. Reproductive performance and fetal growth in female mice from lines divergently selected on the basis of plasma IGF-I concentrations. *J. Reprod. Fert.* 87:349.
- Lagziel, A.; Lipkin, E.; Soller, M., 1996: Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. *Genetics* 142: 945–951.
- Lewin, B. 1994. Genes V. Oxford University Press. New York.



- Li M., Pan Y., Pan QH., Shen YC., Min W., and Ren LJ. 2004. Polymorphism analysis of goat growth hormone (GH) gene by PCR-RFLP. *J Laiyang Agr Res.* 21: 6-9.
- Liefers, S.C., R.F. Veerkamp, M.F.W. Te Pas, C. Delavaud, Y. Chilliard, M. Platje, T. van der Lende. 2005. Leptin promoter mutations affect leptin levels and performance traits in dairy cows. *Animal Genetics.* 36 : 111 – 118.
- Lin, C. Y.; Sabour, M. P.; Lee, A. J., 1992: Direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. *Anim. Breed. Abst.* 60: 1–10.
- Lincoln, D. T., F. Sinowatz, E. el-Hifnawi, R. L. Hughes, and M. Waters. 1995. Evidence of a direct role for growth hormone (GH) in mammary gland proliferation and lactation. *Anat. Histol. Embryol.* 24:107–115.
- Malveiro, E., M. Pereira, P. X. Marques, I. C. Santos, C. Belo, R. Renaville and A. Cravador. 2001. Polymorphisms at the five *exons* of the growth hormone gene in the Algarvia goat: possible association with milk traits. *Small Rumin. Res.* 41: 163-170.
- Mangalam, H. J., V. R. Albert, H. A. Ingraham, M. Kapiloff, L. Wilson, C. Nelson, H. Elsholtz, and M. G. Rosenfeld. 1989. A pituitary POU-domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev.* 3:946–958.
- Merimee, T. J., Zapf, J., and Froesch, E. R. 1982. Insulin-like growth factors in pygmies and subjects with the pygmy trait: Characterization of the metabolic actions of IGF-I and IGF-II in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:1081
- Montgomery G.W and Kinghorn. 1997. Recent developments in gene mapping and progress towards marker-assisted selection in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 48:729-741.
- Moioli, B., F. Napolitano and G. Catillo. 2004. Genetic diversity between Peidmontese, Maremmana and Podolica cattle breeds. *J. Hered.* 95:250-256.
- Muladno, 2001. Dasar-dasar Teknik DNA dan beberapa Aplikasinya. Balai Penelitian dan Pengembangan Zoologi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI, Bogor.
- \_\_\_\_\_, 2002. Seputar Teknologi Rekayasa Genetika. Pustaka Wira Usaha Muda, Bogor.
- Minton J.E., D.J. Bindel, J.S. Drouillard, E.C. Titgemeyer, D.M. Grieger, and C.M. Hill. 1998. Serum leptin is associated with carcass traits in finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 76: 231.

- Münzberg H., M. Björnholm, S.H. Bates, M.G. Myers. 2005. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cell Mol Life Sci.* 62 : 642-52.
- Nicholas FW. 1996. *Introduction to Veterinary Genetics*. New York: Oxford University Press.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei M. and Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University, Press.
- Nelson, C., V. R. Albert, H. P. Elsholtz, L. I. Lu, and M. G. Rosenfeld. 1988. Activation of cell-specific expression of rat growth hormone and prolactin gene by a common transcription factor. *Science* 239:1400–1405.
- Noor R.R. 2008. *Genetika Ternak*. Ed Ke-2 Jakarta: Penebar Swadaya.
- Oprzadek, J., K. Flisikowski, L. Zwierzchowski and E. Dymnicki. 2003. Polymorphisms at loci of leptin (LEP), Pit-1, and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Blackand-White bulls. *Anim. Sci. Papers Rep.* 21: 135-145.
- Pamungkas, F. A., A. Batubara, M. Doloksaribu dan E. Sihite. 2009. Petunjuk Teknis beberapa Plasma Nutfah Kambing Lokal Indonesia. Puslitbangnak. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Rahayu S., SB Sumitro., T Susilawati., dan Soemarno. 2006. Identifikasi Polimorfisme Gen GH (*Growth Hormone*) Sapi Bali dengan Metode PCR-RFLP. *Berk. Penel. Hayati*: 12 (7-11).
- Rahim. L., R.R.Sri Rachma., M.I.A.Dagong dan I.P.Kusumandari. 2012. Keragaman kelompok gen pertumbuhan (*GH, GHR, IGF-1, Leptin* dan *Pit-1*) dan hubungannya dengan karakteristik tumbuh kembang dan karkas pada kambing Marica dan Kacang. Makassar.
- Renaville R, Gengler N, Parmentier I, Mortiaux F, Massart S, Bertozzi C, BurnyAand PortetelleD. 1997., Pit1 gene *Hinf* I RFLP and growth traits in double-musled Belgian Blue cattle. *J Anim Sci* 75 (Suppl. 1):146.
- Rhodes, S. J., R. Chen, G. E. DiMattia, K. M. Scully, K. A. Kalla, S. C. Lin, V. C. Yu, and M. G. Rosenfeld. 1993. A tissue-specific enhancer confers Pit-1-dependent morphogen inducibility and autoregulation on the Pit-1 gene. *Genes Dev.* 7:913–932.
- Rocha, J. L.; Baker, J. F.; Womack, J. E.; Sanders, J. O.; Taylor, J. F., 1992: Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and quantitative traits in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3360–3370.

- Rogério A. Curi, Darío A. Palmieri, Liliane Suguisawa, Henrique N. de Oliveira, Antonio C. Silveira and Catalina R. Lopes. 2006., Growth and carcass traits associated with *GH/Alu* I and *POU1F1/Hinf* I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 1, 56-61.
- Rotwein, P., A. M. Gronowski, and M. J. Thomas. 1994. Rapid nuclear actions of growth hormone. *Horm. Res.*42:170–175.
- Rosenbloom, A. L., R. G. Rosenfeld, and J. Guevara-Aguirre. 1997. Growth hormone insensitivity. *Pediatr. Clin. North Am.*44:423–442.
- Schlee, P.; Graml, R.; Rottmann, O.; Pirchner, F., 1994: Influence of growth – hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. *J. Anim. Breed. Genet.* 111: 253–256.
- Simmons, D. M., J. W. Voss, H. A. Ingraham, J. M. Holloway, R. S. Broide, M. G. Rosenfeld, and L. W. Swanson. 1990. Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes Dev.* 4:695–711
- Sirotkin AV., Mertin D., Süvegová K., Makarevich AV., and Mikulová E. 2003. Effects of GH and IGF-I treatment on reproduction, growth and plasma hormone concentrations in domestic nutria (*Myocastor coypus*) *Gen Comp Endocrinol.* 131:296-301.
- Steinfelder, H. J., P. Hauser, Y. Nakayama, S. Radovick, J. H. McClaskey, T. Taylor, B. D. Weintraub, and F. E. Wondisford. 1991. Thyrotropin-releasing hormone regulation of human TSH $\beta$  expression: role of a pituitary-specific transcription factor (Pit-1/GHF-1) and potential interaction with a thyroid hormone-inhibitory element. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 88:3130–3134.
- Sumantran, V. N., M. L. Tsai, and J. Schwartz. 1992. Growth hormone induces *c-fos* and *c-jun* expression in cells with varying requirements for differentiation. *Endocrinology.* 30:2016–2024.
- Sumantri C., R. Diyono, A. Farajallah, A. Anggraeni dan E. Andreas. 2010. Pemanfaatan famili gen hormon pertumbuhan (GH, GHR, GHRH dan Pit-1) untuk mendeteksi keragaman genetik kerbau di Kabupaten Pandeglang dan Lebak Provinsi Banten. *JITV* 15(4):286-296.
- Suryanto. D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. 2003 Digitized By USU Digital Library.

- Sorenson P, Grochowska R, Holm L, Henryon M, and Lovendahl P. 2002. Polymorphism in the Bovine Growth Hormone Genes Affects Endocrine Release in Dairy Calves. *J. Dairy. Sci.* 85: 1887-1893.
- Tambasco D. D., C. C. P. Paz, M. Tambasco-Studart, A. P. Pereira, M. M. Alencar, A. R. Freitas, L. L. Coutinho, I.U. Packer and L. C. A. Regitano. 2003. Candidate genes for growth traits in beef cattle *Bos Taurus* x *Bos Indicus*. *J. Anim. Bred. Genet.* 120: 51-60.
- Unanian MM., Denise SK., Zhang HM, and Ax RL. 1994. Rapid Communication: Polymerase Chain Reaction-Restriction Length Polymorphism in the Bovine Growth Hormone Gene. *J. Anim. Sci.* 72: 2203.
- \_\_\_\_\_.; Barreto, C. C.; Freitas, A. R.; Cordeiro, C. M. T.; Josahkian, L. A., 2000: Associação do polimorfismo do gene do hormônio de crescimento com a característica peso em bovinos da raça Nelore. *Rev. Bras. Zootec.* 29: 1380–1386.
- Van der Warf J. 2000. An overview of animal breeding programs. Di dalam: Kinghorn B, Van der Warf J, editor. *QTL course : Identifying and Incorporating Genetic Markers and Major Genes in Animal Breeding Programs*. Armidale, Australia: University of New England.
- Vasconcellos, L.P.M.K, D.T. Talhari, A.P. Pereira, L.L.Coutinho and L.C.A. Regitano. 2003. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular. *Genet.mol.biol.* 26:133-137.
- Viljoen, G. J., L. H. Nel and J. R. Crowther. 2005. *Molecular Diagnostic PCR Handbook*. Springer, Dordrecht, Netherland.
- Williams, J. L. 2005. The use of marker assisted selection in animal breeding and biotechnology. *Rev Sci Technol Int Epiz.* 24: 379-391.
- Yeh FC, Yang RC, and Boyle T. 1999. *POPGENE version 1.31* : Microsoft Window-based freeware for population Genetic Analysis. Edmonton, AB. Canada : University of Alberta Canada.
- Yu, T. P., C. K. Tuggle, C. B. Schmitz, and M. F. Rothschild. 1995. Association of Pit-1 polymorphism with growth and carcass traits in pigs. *J. Anim. Sci.* 73:1282–1288.
- Yuniarsih, P., Jakaria, dan Muladno. 2011. Ekspolarasi Gen Growth Hormone *Exon 3* pada Kambing Peranakan Etawah (PE), saanen dan PESA melalui Teknik PCR-SSCP. IPB, Bogor.
- Yuwono T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction* Yogyakarta: C.V Andi Offset.

Zhao Q, Davis ME, Hines HC. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J Anim Sci* 82:2229-2233.

Zhang C., Yun L., Kunkun H., Weinbing Z., Deking Xu., Qunying Wen., and Ligou Yang. 2011. The association of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in growth hormone (GH) gene with litter size and superovulation response in goat-breeds. *Genet Mol Biol.* 34:49-55.

## RIWAYAT HIDUP



**Yulianty (I 111 09 272)**, lahir di Tanjung Redeb pada tanggal 29 Mei 1991 pasangan dari M. Damis. L dan Hasnawati. Penulis menyelesaikan Sekolah Dasar di SDN 018 Tanjung Redeb Berau pada tahun 2003, kemudian melanjutkan pendidikan pada Sekolah Menengah Pertama

di MTsN Tanjung Redeb Berau dan selesai pada tahun 2006, dan melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Berau dan selesai pada tahun 2009. Penulis lulus di Universitas Hasanuddin pada tahun 2009 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) dan diterima di Fakultas Peternakan, jurusan Produksi Ternak. Selama kuliah penulis menjadi pengurus di Himpunan Mahasiswa Produksi Ternak (HIMAPROTEK) 2010-2011. Pengurus di Senat Mahasiswa Peternakan 2012-2013. Pengurus di Himpunan Mahasiswa Islam (HMI) 2012-2013.